

4/19/1 DIALOG(R)File 351:Derwent WPI (c) 2004 Thomson Derwent. All rts. reserv.

012012134    \*\*Image available\*\*

WPI Acc No: 1998-429044/199837

XRAM Acc No: C98-129453

XRPX Acc No: N98-334963

**Analysing chemical array - by sequentially radiating pixels  
in the array and determining fluorescence resulting, etc.**

Patent Assignee: HEWLETT-PACKARD CO (HEWP )

Inventor: DORSEL A; LEFKOWITZ S M; SADLER J W

Number of Countries: 003 Number of Patents: 005

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week	
DE 19802378	A1	19980806	DE 1002378	A	19980122	199837	B
US 5837475	A	19981117	US 97790775	A	19970130	199902	
JP 10311796	A	19981124	JP 987911	A	19980119	199906	
US 5945679	A	19990831	US 97790775	A	19970130	199942	
			US 98132068	A	19980817		
DE 19802378	C2	20000713	DE 1002378	A	19980122	200035	

Priority Applications (No Type Date): US 97790775 A 19970130; US 98132068 A 19980817

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan	Pg	Main IPC	Filing Notes
DE 19802378	A1	10		G01N-021/64	
US 5837475	A			G01N-033/53	
JP 10311796	A	8		G01N-021/64	
US 5945679	A			G01N-021/64	Div ex application US 97790775
					Div ex patent US 5837475

DE 19802378 C2            G01N-021/64

Abstract (Basic): DE 19802378 A

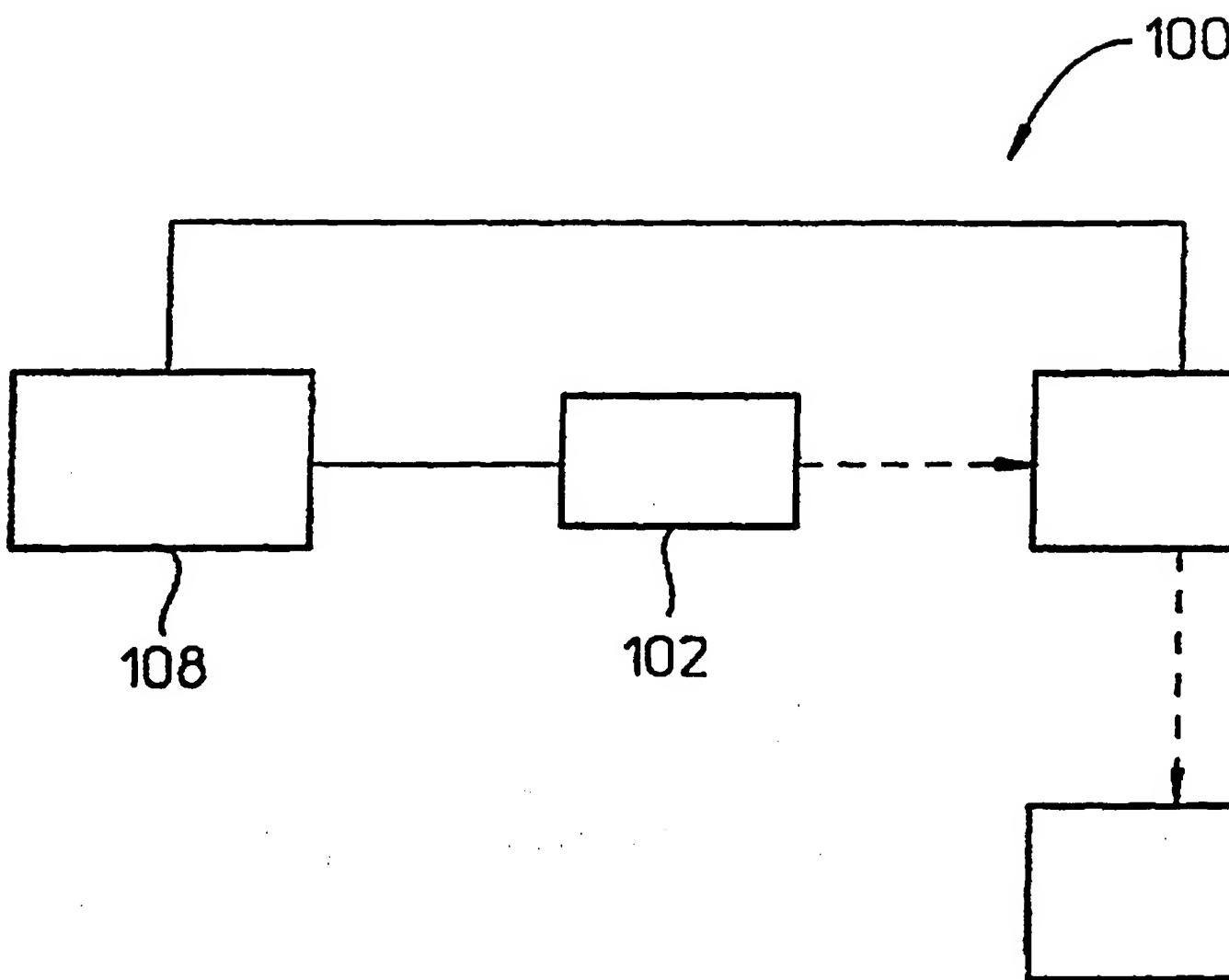
Process for analysing a chemical array (104) having a number of array elements containing the same fluorescent material comprises: (a) sequentially radiating a 1st number of pixels in the array elements and determining the fluorescence resulting from the radiation into the pixels, where the 1st number of pixels is >1 pixel and less than the total number of pixels in the array, and (b) repeating the radiation and determination of the 1st number of pixels one or more times before radiating the pixels of a 2nd number of pixels different from the 1st number of pixels. An apparatus for carrying out the process is also claimed.

The apparatus comprises: (a) a light source (102) for radiating a light source onto the elements in individual pixels; (b) a device for controlling (108) the relative position of the light source (102) to the array (104) so that the light source directs the light beam to sequentially radiate a 1st number of pixels in the array (104) and to repeat the sequential radiation before radiating a 2nd number of pixels, and (c) a detector (110) to determine a fluorescence resulting from the radiation.

USE - The apparatus is used for the quick analysis of chemicals.

Dwg.1/3

This Page Blank (uspto)



Title Terms: ANALYSE; CHEMICAL; ARRAY; SEQUENCE; RADIATE; PIXEL; ARRAY;  
DETERMINE; FLUORESCENT; RESULT

Derwent Class: B04; D16; J04; S03

International Patent Class (Main): G01N-021/64; G01N-033/53

International Patent Class (Additional): C09K-011/06; G01N-033/50;  
G01N-033/68; G06F-019/00

File Segment: CPI; EPI

Manual Codes (CPI/A-N): B06-A01; B06-A03; B06-D13; B11-C07B3; B12-K04;  
D05-H09; J04-C03

Manual Codes (EPI/S-X): S03-E04D

Chemical Fragment Codes (M2):

\*01\* C035 C100 C720 C800 C801 C803 C804 C805 C806 C807 D013 D022 D029  
E120 G010 G100 H1 H101 H142 K0 L7 L721 M1 M113 M210 M212 M273 M281  
M320 M411 M424 M511 M520 M530 M540 M640 M740 M781 M903 M904 M910  
N105 P831 Q233 Q435 Q505 R03898-K R03898-T R03898-U  
\*02\* C108 D011 D022 D029 D210 G011 G100 H4 H402 H442 H8 J0 J011 J1 J131  
K0 L7 L730 M1 M113 M280 M320 M412 M424 M511 M520 M531 M540 M740 M781  
M903 M904 M910 N105 P831 Q233 Q435 Q505 R01594-K R01594-T R01594-U  
\*03\* A111 A960 C710 D014 D019 E160 E199 H1 H181 H2 H201 K0 K431 K499 L7  
L721 M1 M126 M134 M210 M211 M240 M283 M314 M315 M321 M332 M342 M383

This Page Blank (uspto)

M392 M411 M424 M512 M520 M530 M540 M630 M740 M781 M903 M904 N105  
P831 Q233 Q435 Q505 R12958-K R12958-T R12958-U 02933  
\*04\* C017 C100 C720 D011 D022 D029 D210 G011 G100 H1 H103 H142 J0 J011 J1  
J131 K0 L7 L730 M1 M113 M210 M212 M273 M283 M320 M411 M424 M511 M520  
M531 M540 M640 M740 M781 M903 M904 N105 P831 Q233 Q435 Q505 R03902-K  
R03902-T R03902-U 02933  
\*05\* C017 C100 D011 E570 G015 G100 K0 K1 K121 K4 K431 L7 L730 M1 M113  
M280 M320 M412 M424 M511 M520 M531 M540 M740 M781 M903 M904 N105  
P831 Q233 Q435 Q505 R14819-K R14819-T R14819-U 02933 41620

Chemical Fragment Codes (M6):

\*06\* M903 P831 Q233 Q435 R533 R536 02933 41620

Ring Index Numbers: ; 02933; 41620

Derwent Registry Numbers: 1478-U

Specific Compound Numbers: R03898-K; R03898-T; R03898-U; R01594-K; R01594-T  
; R01594-U; R12958-K; R12958-T; R12958-U; R03902-K; R03902-T; R03902-U;  
R14819-K; R14819-T; R14819-U

Derwent WPI (Dialog® File 351): (c) 2004 Thomson Derwent. All rights reserved.

© 2004 Dialog, a Thomson business

This Page Blank (uspto)



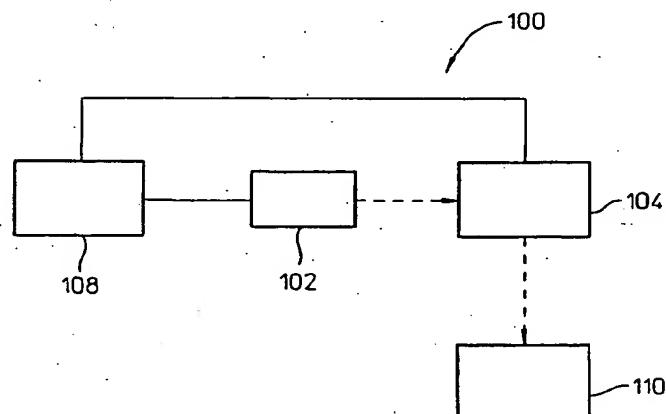
(21) Aktenzeichen: 198 02 378.2-52  
 (22) Anmeldetag: 22. 1. 1998  
 (43) Offenlegungstag: 6. 8. 1998  
 (45) Veröffentlichungstag  
 der Patenterteilung: 13. 7. 2000

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

(30) Unionspriorität:  
 790775 30. 01. 1997 US  
 (73) Patentinhaber:  
 Hewlett-Packard Co., Palo Alto, Calif., US  
 (74) Vertreter:  
 Schoppe, Zimmermann & Stöckeler, 81479  
 München

(72) Erfinder:  
 Dorsel, Andreas, Menlo Park, Calif., US; Lefkowitz,  
 Steven M., Millbrae, Calif., US; Sadler, John W.,  
 Belmont, Calif., US  
 (56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht  
 gezogene Druckschriften:  
 DE 29 47 459 A1  
 DE 25 37 098 A1  
 US 54 59 325 A  
 US 51 43 854 A  
 WO 92 10 588 A1  
 WO 92 10 587 A1  
 WO 91 07 087 A1  
 WO 89 10 977 A1  
 Science, Vol. 251, 1991, S. 767-773;  
 Clin.Biochem., Vol. 21, 1988, S. 139-150;  
 Analytica Chimica Acta, 290, 1994, S. 40-47;

(54) Vorrichtung und Verfahren zum Analysieren von Chemikalien in einem Array mit einer Mehrzahl von Arrayelementen  
 (55) Vorrichtung zum Analysieren von Chemikalien in einem Array (104) mit einer Mehrzahl von Arrayelementen, von denen bei einigen angenommen wird, daß dieselben fluoreszierendes Material enthalten, mit:  
 – einer Lichtquelle (102) zum Strahlen eines Lichtstrahls auf die Arrayelemente in einzelnen Pixeln, wobei die Pixel in Zeilen angeordnet sind;  
 – einer Einrichtung zum Steuern (108) der relativen Position der Lichtquelle (102) zu dem Array (104), derart, daß die Lichtquelle den Lichtstrahl richtet, um eine erste Anzahl von Pixeln in dem Array (104) sequentiell zu bestimmen, und zum einmaligen oder mehrmaligen Wiederholen der sequentiellen Bestrahlung vor dem Bestrahlung einer zweiten Anzahl von Pixeln, wobei sich die Pixel der zweiten Anzahl von den Pixeln der ersten Anzahl unterscheiden, wobei die erste Anzahl von Pixeln mehr als ein Pixel und weniger als die Gesamtanzahl der Pixel in dem Array (104) aufweist; und wobei die Einrichtung zum Steuern (108) angeordnet ist, um die erste Anzahl von Pixeln derart auszuwählen, daß vor einem erneuten Bestrahlung eines Pixels eine Zeitdauer verstreicht, die ausreichend ist, daß sich fluoreszierendes Material in dem Pixel von einem metastabilen Zustand erholt; und  
 – einem Detektor (110) zum Erfassen einer Fluoreszenz, die aus der Bestrahlung resultiert.



1  
Beschreibung

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf das Analysieren von Chemikalien in einem chemischen Array und insbesondere auf das Verbessern des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses durch Wiederholen des Abtastens der Pixel des Arrays.

In jüngster Zeit wurden chemische Arrays insbesondere biomolekulare Arrays erfolgreich erzeugt. Beispielsweise offenbaren S. P. A. Fodor u. a., "Light-Directed, Spatially Addressably Parallel Chemical Synthesis", Science, Band 251, 1991, S. 767-773, hochdichte Arrays, die durch eine lichtgerichtete Synthese gebildet sind. Das Array wurde für eine Antikörpererkennung verwendet. Biomolekulare Arrays werden ferner durch E. Southern (PCT-Veröffentlichung WO 89/10977) A1 zum Analysieren von Polynucleotidsequenzen beschrieben. Derartige biomolekulare Arrays eignen sich für eine große Anzahl von Anwendungen von der DNA- und Protein-Sequenzierung zu dem DNA-Fingerabdrucknehmen und der Krankheitsdiagnose.

Ein typischer Lösungssatz zum Synthetisieren eines Polymerarrays auf einem optischen Substrat wird durch Fodor u. a. (1991) *supra*, PCT-Veröffentlichungen WO 91/07087 A1, WO 92/10587 A1 und WO 92/10588 A1; und US 5,143,854 A, beschrieben. Bei derartigen Arrays werden unterschiedliche Rezeptoren auf einem Substrat unter Verwendung von photolithographischen Techniken synthetisiert. Liganden werden über das Array gewaschen. Entweder ist der Ligand fluoreszierend gekennzeichnet oder es wird ein zusätzlicher, fluoreszierend gekennzeichneter Rezeptor ferner über das Array gewaschen. Das Resultat besteht darin, daß Fluorophore auf den Pixeln festgesetzt werden, wo eine Bindung zwischen dem Liganden und dem Rezeptor oder Rezeptoren stattgefunden hat. Allgemein wird ein chemisches Array mit einer Strahlung beleuchtet, die die Fluorophore erregt. Die Struktur der hellen und dunklen Pixel wird aufgezeichnet. Informationen über den Liganden werden durch Vergleichen dieser Hell-Dunkel-Struktur mit bekannten Strukturen von oberflächengebundenen Rezeptoren verglichen.

Bei vielen Anwendungen, z. B. beim Analysieren des menschlichen Genoms, ist es oft notwendig, eine große Anzahl von Arrayelementen abzutasten. Daher ist die Fähigkeit, ein chemisches Array mit einer großen Anzahl von Elementen innerhalb einer kurzen Zeit zu lesen, sehr wünschenswert. Es wurden Laser verwendet, um auf chemische Arrayelemente mit einem Strahl einer kleinen Fleckgröße und einer hohen Intensität aufzutreffen.

Das US-Patent 5,459,325 A offenbart einen schnellen Fluoreszenz-Scanner, dessen wesentlichen optischen Komponenten nicht am Abtastkopf angebracht sind, um einen Abtastkopf mit geringer Masse zu schaffen, der schnell und genau bewegt werden kann. Ein Lichtstrahl wird zwischen Reflektoren über eine zu bestehende Fläche hin- und herbewegt, wobei eine Abtastlinie in der einen Richtung erzeugt wird, über die eine Abtastlinie in der anderen Richtung überlagert ist, wenn die zu bestehende Fläche nicht bewegt wird. Wenn die zu bestehende Fläche senkrecht zu der Abtastlinie bewegt wird, kann eine zweidimensionale Abtastung erreicht werden.

Die DE 25 37 098 A1 offenbart ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Unterscheidung zwischen zwei fluoreszierenden Teilchenarten mit unterschiedlichen Fluoreszenzabklingdauern. Eine zu bestehende Probe umfaßt daher zwei fluoreszierende Stoffe, von denen der eine, eine schnelle Abklingdauer hat, während der andere eine langsame Abklingdauer hat. Um den Stoff mit der langsamsten Abklingdauer ohne Einfluß des Stoffs mit der schnellen Abkling-

5 dauer zu detektieren, wird ein Detektor erst aktiviert, wenn die Fluoreszenz des Stoffs mit schneller Abklingdauer bereits im wesentlichen abgeklungen ist, während die Fluoreszenz des Stoffs mit langsamster Abklingdauer noch vorhanden ist.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht darin, eine Vorrichtung und ein Verfahren zum schnellen Analysieren von Chemikalien in einem chemischen Array mit einer großen Anzahl von Elementen zu schaffen.

10 Diese Aufgabe wird durch eine Vorrichtung zum Analysieren von Chemikalien in einem Array gemäß Anspruch 1 und ein Verfahren zum Analysieren von Chemikalien in einem Array gemäß Anspruch 7 gelöst.

Die vorliegende Erfindung schafft eine Vorrichtung und 15 eine Technik zum Analysieren von Chemikalien in einem chemischen Array, das abgetastet wird, d. h. durch Bestrahlen und Erfassen jeglicher resultierender Lichtwechselwirkung, wie z. B. der Fluoreszenz in Pixelzeilen. Es wird vermutet, daß einige der Pixel Zielchemikalien enthalten, die 20 ein fluoreszierendes Material enthalten. Die Vorrichtung umfaßt eine Lichtquelle, eine Steuerung und einen Detektor. Die Lichtquelle wird zum Strahlen eines Lichtstrahls auf die einzelnen Pixel verwendet. Die Lichtquelle kann einen Lichtgenerator, wie z. B. einen Laser, und eine Vorrichtung 25 zum Richten eines Lichtstrahls von dem Lichtgenerator, wie z. B. einen Scanner (= Abtastvorrichtung), enthalten. Die Steuerung steuert die relative Position der Lichtquelle zu derselben der Pixel, derart, daß die Lichtquelle den Lichtstrahl derart richtet, um Pixel in einem Satz sequentiell in 30 dem Array zu bestrahlen. Die sequentielle Bestrahlung wird auf dem Pixelsatz ein oder mehrere Male wiederholt, bevor ein zweiter Pixelsatz bestrahlt wird, der Pixel enthält, die sich von den Pixeln in dem ersten Pixelsatz unterscheiden. Der erste Pixelsatz weist mehr als ein Pixel, jedoch weniger 35 als die Gesamtzahl der Pixel in dem Array auf. Der Detektor wird zum Erfassen der Fluoreszenz verwendet, die aus der Bestrahlung des Arrays resultiert.

Die Vorrichtung und Technik der vorliegenden Erfindung kann vorteilhaft verwendet werden, um chemische Arrays, 40 insbesondere große chemische Arrays, zu analysieren, die Tausende oder Millionen von kleinen Pixeln enthalten, wenn dieselben abgetastet werden. Durch ermöglichen einer adäquaten Zeit dazu, daß sich die Farbstoffmoleküle in den Pixeln von den metastabilen Zuständen erholen können, die nicht fluoreszieren können, können mehr Signale erhalten werden, um das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu verbessern ohne die Erregungsstrahlintensität zu erhöhen. Es wird jedoch durch Reduzieren der Zeit vor dem Wiederholen der Bestrahlung eines Pixels und des Abstands, der durch den 45 Strahl zwischen den Neubestrahlungen (d. h. dem Wiederholen der Bestrahlung) eines Pixels durchlaufen wird, eine genauere Überlagerung erreicht, die zu zuverlässigeren Daten führt.

50 Bevorzugte Ausführungsbeispiele der vorliegenden Erfindung werden nachfolgend unter Bezugnahme auf die beigefügten Zeichnungen näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 eine schematische Darstellung der Vorrichtung;

Fig. 2 eine schematische Darstellung weiterer Details der Vorrichtung;

55 Fig. 3 ein Flußdiagramm, das den Prozeß des Lesens eines chemischen Arrays zeigt; und

Fig. 4 eine schematische Darstellung, um einige der Energieniveaus eines Farbstoffs darzustellen.

Die vorliegende Erfindung schafft eine verbesserte Technik 60 zum Analysieren eines chemischen Arrays durch Wiederholen der Beleuchtung und Erfassen der resultierenden Fluoreszenz eines Pixelsatzes in dem Array vor dem Bewegen zu einem weiteren Pixelsatz. In jedem Pixelsatz werden

alle Pixel sequentiell vor dem erholen beleuchtet. Dies verbessert das Signal-zu-Rausch-Verhältnis durch Ermöglichen einer adäquaten Zeit für den Farbstoff dazu, um sich von den metastabilen Zuständen zu erholen, bevor derselbe wiederum beleuchtet wird.

Wie hierin verwendet, ist ein "Array" eine Anordnung von Objekten im Raum, in dem jedes Objekt eine getrennte, vorbestimmte, räumliche Position einnimmt. Jedes der Objekte oder Arrayelemente (die viele Pixel enthalten können, wenn dieselben mit Lichtpulsen abgetastet werden) in dem Array in dieser Vorrichtung enthält eine oder mehrere Spezies von chemischen Bindemittelanteilen zum Binden von spezifischen Analytika, derart, daß die physische Position jeder Spezies von Analytika bekannt oder feststellbar ist. "Pixel" sind Flecken eines Arrays, dessen Flecken beleuchtet werden, und das resultierende Licht von den Flecken wird als diskrete Elemente erfaßt, um eine Bildstruktur zu bilden, wenn das Array analysiert wird. Ein "Analytikum" ist ein Molekül, dessen Erfassung in einer Probe erwünscht ist, und das sich selektiv oder spezifisch an einen chemischen Bindemittelanteil bindet, wie z. B. eine molekulare Sonde. Ein Analytikum kann von dem gleichen oder einem anderen Molekültyp wie die molekulare Sonde sein, an die dasselbe gebunden ist.

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zum Analysieren von chemischen Arrays. Die Vorrichtung 100 enthält eine Lichtquelle (z. B. einen Laser) 102 zum Emissieren eines Lichts einer Wellenlänge und mit einer ausreichenden Intensität, um eine Fluoreszenz in einem ausgewählten fluoreszierenden Material zu bewirken. Oftmals ist die Erregungslichtintensität ausreichend hoch, derart, daß der Farbstoff, der in dem chemischen Array 104 verwendet wird, sich einer metastabilen Zustandssättigung nähert, d. h. einige der Farbstoffmoleküle kreuzen in metastabile Zustände. Eine Einrichtung zum Steuern 108 richtet das Licht von der Lichtquelle 102, so daß dasselbe auf den Elementen des Arrays ein Pixel nach dem anderen auftrifft. Dies kann beispielsweise unter Verwendung einer Steuerung erreicht werden, um die relative Position der Lichtquelle 102 zu dem chemischen Array 104 zu ändern, z. B. durch Bewegen des Lichtgenerators (z. B. eines Lasers) in der Lichtquelle, durch Bewegen des chemischen Arrays oder durch Steuern eines Lichtstrahls, z. B. unter Verwendung eines Scanners, derart, daß unterschiedliche Pixel zu unterschiedlichen Zeitpunkten beleuchtet werden können. Typischerweise wird der Lichtstrahl durch Translation des Arrays auf einem Objektisch (in Fig. 1 nicht gezeigt) oder durch Abtasten des Lichtstrahls mit einem Strahlscanner gerichtet. Der Farbstoff emittiert, wenn derselbe durch das Erregungslicht von der Lichtquelle 102 erregt wird, eine Fluoreszenz, die durch einen Detektor 110 erfaßt wird. Die Fluoreszenzintensität kann auch gemessen werden.

Fig. 2 zeigt detaillierter ein Ausführungsbeispiel der Vorrichtung von Fig. 1. Die Vorrichtung 200 weist einen Laser 204 auf, der einen Erregungslaserstrahl emittiert. Ein Scanner 208 richtet den Laserstrahl durch ein optisches System 212 zu einem chemischen Array 216, um eine Fluoreszenz zu bewirken. Das optische System 212 kann beispielsweise eine ausrichtende Optik, wie z. B. Linsen und Prismen, enthalten, um den Laserstrahl auf die Pixel in dem chemischen Array zu fokussieren.

Das fluoreszierende Licht, das von dem Array resultiert, der durch den Laserstrahl bestrahlt wird, wird durch ein optisches System 220 gesammelt, das z. B. Linsen und Prismen enthalten kann, um das fluoreszierende Licht zu einem Detektor 224 zu richten. Die optischen Systeme 220 können ferner Filter und Blenden enthalten, um ungewolltes Licht, wie z. B. Erregungslicht, hinauszufiltern. Eine Steuerung

228 ist elektrisch mit dem Detektor 224 zum Sammeln von elektrischen Signalen verbunden, die in dem Detektor als ein Resultat des Fluoreszenzlichts erzeugt werden, das auf den Detektor trifft. Die Steuerung 228 ist mit einem Scanner 208 verbunden, derart, daß jedes Fluoreszenzlichtsignal, das durch den Detektor 224 empfangen wird, zu dem Pixel verfolgt werden kann, von dem das Fluoreszenzlichtsignal erzeugt wird. Die Steuerung 228 ist ferner mit dem Laser 204 verbunden, und dieselbe kann verwendet werden, um den Laser zu steuern, um Lichtpulse einer spezifischen Dauer zu emittieren. Der Scanner 208 wird verwendet, um den Laserstrahl von einem Pixel zu einem anderen Pixel zwischen Pulsen zu bewegen. Wenn es jedoch erwünscht ist, kann der Laser einen kontinuierlichen Strahl emittieren, sowie der Scanner den Laserstrahl von Pixel zu Pixel richtet. Alternativ kann, statt dem Abtasten, d. h. dem Bewegen, des Erregungsstrahls, das chemische Array 216 gesteuert werden, um zu translatieren, um unterschiedliche Pixel unter dem fokussierten Erregungsstrahl zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu positionieren. Eine weitere Alternative besteht darin zu steuern, um physisch den Laser 204 zu bewegen, um den Laserstrahl auf unterschiedliche Pixel zu richten.

Die Daten von Signalen, die durch die Steuerung 228 empfangen werden, können verarbeitet werden, um die Anwesenheit oder die Menge von Analytika in den Pixeln zu bestimmen. Um dies zu erreichen, kann die Steuerung 228 einen Mikroprozessor oder einen Computer enthalten, um die Informationen auf den Pixelpositionen und die Fluoreszenz zu verarbeiten. Die Signale von dem Detektor 224 oder die Informationen von der Steuerung 228 können ferner zu einem weiteren Prozessor 232 für eine weitere Datenverarbeitung und zu einem Speicherungsgerät 236, wie z. B. einer Platte, Bändern, Kompaktplatten und dergleichen, übertragen werden. Die Informationen von der Steuerung 228 oder dem Prozessor 232 können ferner in einem Anzeigegerät 240 angezeigt werden, wie z. B. einer Kathodenstrahlröhre, einem Plotter (= Zeichengerät), einem Drucker und dergleichen. Wenn es erwünscht ist, können unterschiedliche Computer und Mikroprozessoren verwendet werden, um die relative Lichtstrahl/Pixel-Position zu steuern, und um die Daten der Pixelposition und die Fluoreszenzstruktur zu verbinden.

#### Verfahren zum Lesen des Arrays

Fig. 3 zeigt die Technik zum Analysieren, d. h. Lesen oder Abtasten von Pixeln in einem chemischen Array. Typischerweise umfaßt das Array Arrayelemente, die, wenn dieselben durch eine Bestrahlung und Erfassung der Fluoreszenz gelesen werden, zu Pixeln führen, die in Reihen und Spalten angeordnet sind, die jeweils als eine Zeile betrachtet werden können. Zur Erläuterung wird eine Reihe eine Zeile genannt. Ein Pixelsatz wird aus dem Array (Schritt 304) ausgewählt. Das erste Pixel in dem Satz wird mit einem Laserstrahl für eine spezifische Dauer, z. B. ein paar Mikrosekunden, bestrahlt, und die resultierende Fluoreszenz wird erfaßt oder gemessen (Schritt 306). Die anderen Pixel in dem Satz werden ähnlich behandelt, d. h. bestrahlt, und die resultierende Fluoreszenz (Schritt 310) wird sequentiell, ein Pixel nach dem anderen, erfaßt. Nachdem das letzte Pixel in dem Satz einmal durch Bestrahlung und Erfassen gelesen wurde, werden die Pixel einmal oder mehrere Male (Schritte 314 und 318) auf eine Art und Weise ähnlich zu dem ersten Lesen noch einmal gelesen. Andere Sätze von Pixeln in dem Array werden ausgewählt und gelesen wie der erste Satz gelesen wurde, bis alle Pixel gelesen wurden (Schritt 322). Allgemein bedeutet dies, daß alle Arrayelemente gelesen wurden.

Vorzugsweise enthält jeder der Sätze Pixel, die physisch nah zueinander sind, derart, daß die Bewegung der Betätigungs vorrichtung, z. B. dem Scanner, zum Bewegen der relativen Position des Lichtstrahls zu den Pixeln nicht umfangreich ist, wenn sich von Pixel zu Pixel bei der Bestrahlung und bei der Neubestrahlung bewegt wird. Beispielsweise kann der Satz eine Anzahl von Pixeln (d. h. ein Teilsatz von Pixeln) in einer Zeile sein. Vorzugsweise ist der Satz eine Zeile (z. B. eine Reihe oder eine Spalte), um die gleichmäßige Bewegung der Abtastvorrichtung zu erleichtern, um sequentiell die Pixel in dem Satz abzutasten. Wenn es erwünscht ist, kann der Satz einen Abschnitt einer Zeile oder mehr als eine Zeile umfassen. Wie vorher dargelegt, wird die Anzahl der Pixel in einem Satz derart ausgewählt, daß eine adäquate Zeit zum Erholen der Pixel von den metastabilen Zuständen ermöglicht wird.

Auswählen der Zeit vor dem Wiederholen des Bestrahlens eines Pixels

Bei einem Laser-hervorgerufene-Fluoreszenz-Scanner mit einer kleinen Fleckgröße (z. B. etwa  $3 \mu\text{m}$  FWHM Gauß-Strahl (FWHM = Full Width at Half Maximum = Halbwertsbreite)) erregt das Laserlicht die fluorophoren (d. h. Farbstoff-) Moleküle und bewirkt eine Fluoreszenz. Die Fluoreszenz wird erfaßt, um die Anwesenheit der fluorophoren Moleküle und daher die Anwesenheit von Analytika anzuzeigen, die an den fluorophoren Molekülen befestigt sind. Fig. 4 ist eine schematische Darstellung, die den Energieniveaübergang zeigt, wenn ein Farbstoff erregt wird. Wenn ein Farbstoffmolekül Laserlicht (Pfeil E) absorbiert, wird dasselbe von dem Grundzustandsenergieniveau G zu dem Energieniveau H erregt. Von dem Energieniveau H fällt das Farbstoffmolekül zurück zu dem Grundzustand (Pfeil F), der Licht als Fluoreszenz freigibt.

Um bessere Signale zu erzeugen, wird ein Laser mit einer ziemlich hohen Intensität verwendet, da bis zu einem gewissen Grad ein Erregungslicht mit einer höheren Intensität (d. h. Licht von dem Laser) mehr fluoreszierende Photonen erzeugt. Aufgrund der Intensität des Laserlichts, das auf den Farbstoff auftrifft, können die Farbstoffmoleküle, abhängig von der Natur des speziellen Farbstoffs, in metastabile Zustand(e) (oder langlebige quasistabile Zustand(e), z. B. von dem erregten Energieniveau H) kreuzen, wie z. B. dem Triplett-Zustand. Wie hierin verwendet, bezieht sich der Ausdruck "metastabiler, Zustand" oder "langlebiger quasistabiler Zustand" eines Farbstoffmoleküls auf einen Energiezustand, bei dem das Farbstoffmolekül ein Energieniveau aufweist, das höher ist als das Grundzustandsenergieniveau, jedoch seine Energie verliert, wobei sich dasselbe zu dem Farbstoffgrundzustand eine Größenordnung langsamer als die Singlett-Zustandsfluoreszenz umwandelt. Abhängig von dem speziellen Farbstoff sind viele unterschiedliche metastabile Zustände möglich. Ein wichtiges Beispiel eines metastabilen Zustands ist der Triplett-Zustand. Andere metastabile Zustände umfassen den biradikalen Zustand und den Ionenpaar-Zustand: Obwohl viele metastabile Zustände möglich sein können, sind zugunsten der Klarheit in Fig. 4 die metastabilen Zustände als M gezeigt, zu denen der Übergang von dem Energieniveau H durch den Pfeil L dargestellt ist. In ihren metastabilen Zuständen wandeln sich die Farbstoffmoleküle zurück zu dem Grundzustand wesentlich langsamer um als bei der Singlett-Zustandsfluoreszenz, die durch den Pfeil F gezeigt ist. Von den metastabilen Zuständen aus gibt das fluoreszierende Material (d. h. die Farbstoffmoleküle) kein Licht mit einer gleichen Wellenlänge frei wie dieselbe der Fluoreszenz des Pfeils F. Daher geht jedes Farbstoffmolekül, das zu dem metastabilen Zustand

kreuzt, an die Fluoreszenz verloren. Da ein Farbstoffmolekül in einem metastabilen Zustand nicht fluoreszieren kann, erscheint dieses Phänomen als Sättigung des Fluoreszenzsignals. In dieser Situation wird ein Erhöhen der Laserleistung, d. h. der Beleuchtungsintensität auf ein Arrayelement, nicht die Anzahl der erfaßten Fluoreszenzphotonen proportional erhöhen.

Bei Systemen, die durch Photonschrotrauschen bezüglich ihrer Leistung begrenzt sind, kann, wenn Sättigung auftritt, das Signal-zu-Rausch-Verhältnis lediglich unwesentlich, wenn überhaupt, durch langsameres Abtasten oder mit einer höheren Beleuchtungsleistung erhöht werden. Wie beschrieben wird ein Satz (oder eine Anzahl) von Pixeln in dem chemischen Array zweimal oder mehrere Male abgetastet, um das Signal-zu-Rausch-Verhältnis zu erhöhen. Außerdem wird eine Zeittära gewartet, so daß sich die Moleküle in dem Farbstoff in einem Pixel ausreichend, vorzugsweise wesentlich, von ihren metastabilen Zuständen vor dem Neubestrahlen des Pixels erholen. Schließlich wird ein Satz, d. h. eine Anzahl, von Pixeln sequentiell jeweils für eine kurze Dauer (z. B. ein paar Mikrosekunden) bestrahlt, derart, daß zu dem Zeitpunkt, zu dem das letzte Pixel in dem Satz bestrahlt wird, sich das erste Pixel von dem metastabilen Zustand erholt hat.

Die Zeittära (hierin als "Ruhedauer" bezeichnet), die für den Farbstoff in einem Pixel ausgewählt werden soll, derart, daß sich derselbe von den metastabilen Zuständen vor dem Neubestrahlen erholt, hängt von der Natur des Farbstoffs ab. Viele häufig verwendete Farbstoffe weisen Erholungszeitkonstanten metastabiler Zustände in dem Bereich von etwa  $10^{-5}$  s bis  $10^{-1}$  s auf. Aus diesem Grund würde eine Ruhedauer von etwa  $10^{-5}$  s bis  $10^{-1}$  s adäquat für den Farbstoff in einem Pixel sein, so daß sich derselbe wesentlich von seinem metastabilen Zustand erholt. Im Gegensatz dazu befindet sich die Fluoreszenzzeitkonstante in dem Bereich von Nanosekunden. Allgemein ist von wenigen der häufig verwendeten Farbstoffen die Ruhedauer in der Technik bekannt. Die Ruhedauer eines Farbstoffs kann auch durch ein Verfahren bestimmt werden, wie es im folgenden beschrieben ist. Die Anzahl der Pixel, die in einem Satz eingeschlossen werden sollen, hängt von der Beleuchtungszeit für ein Pixel und der Erholungszeit (oder der Ruhedauer) des Farbstoffs ab. Allgemein werden hundert oder mehr Pixel, vorzugsweise mehr als tausend Pixel, in einem Pixelsatz umfaßt, der sequentiell vor der Neubestrahlung gelesen werden soll.

Um die Ruhedauer eines Farbstoffs zu bestimmen, kann die folgende Technik verwendet werden. Der interessierende Farbstoff wird einem Licht von einer Strahlungsquelle ausgesetzt, die schnell relativ zu der Farbstoffruhedauer eingeschaltet wird, während die zeitliche Entwicklung (d. h. die Zeitabhängigkeit der fluoreszierenden Intensität) der fluoreszierenden Intensität überwacht wird. Die fluoreszierende Intensität ist anfangs am höchsten, dieselbe fällt jedoch mit der Zeit auf ein niedrigeres Niveau ab. Die Zeit, die erforderlich ist, um das niedrigere Intensitätsniveau zu erreichen, ist eng mit der Farbstoffruhedauer verwandt. Der Abfall der fluoreszierenden Intensität spiegelt das Sättigungsniveau wieder. Die Daten, die erhalten werden, können an ein mathematisches Modell angepaßt werden, um Zeitkonstanten der Veränderung der Intensität zu erhalten. Modellierverfahren, um Zeitkonstanten zu erhalten, sind in der Technik bekannt. Allgemein wird davon ausgegangen, daß sich der Farbstoff von den metastabilen Zuständen nach etwa einer Zeitkonstante ausreichend erholt hat. Es wird davon ausgegangen, daß sich derselbe von den metastabilen Zuständen nach etwa zwei Zeitkonstanten wesentlich erholt hat.

Beispiele geeigneter Farbstoffe (d. h. von fluoreszieren-

dem Material), die als Kennziffer verwendet werden können, umfassen Farbstoffe, die Fachleuten gut bekannt sind, wie z. B. Fluoreszeine, TEXAS RED, Ethidiumbromide, chelatierte Lanthanoide, Rhodamine, Indocyanine, Carboxyfluorescein, Oxazine, Organometalle und metallische Atomclusterverbindungen. Die Ruhedauer, d. h. die Zeit, die zum Erholen von den metastabilen Zuständen dieser Farbstoffe erforderlich ist, kann mit der oben beschriebenen Technik bestimmt werden.

Eine Vielfalt von geeigneten, lichtemittierenden Bauelementen kann als der Lichtgenerator in der Lichtquelle verwendet werden. Derartige lichtemittierende Bauelemente sind in der Technik bekannt. Sie umfassen beispielsweise lichtemittierende Dioden (LED; LED = Light Emitting Diode) und Laser, wie z. B. Diodenlaser, Gaslaser, z. B. He-Ne-Laser, Ar-Ionenlaser, frequenzverdoppelte Neodym-Glaslaser, Neodym-YAG-Laser, Faserlaser oder andere Festkörperlaser. Die Pixel in dem Array können in einer flachen Struktur angeordnet werden. Eine Alternative ist das Anordnen der Pixel in einer kreisförmigen Struktur, wie z. B. auf einer zylindrischen Oberfläche. Allgemein werden die Pixel in einer Struktur von Reihen und Spalten gehalten. Da der Ursprung jedes Pixels bekannt ist, sind die chemischen Bindemittelanteile in dem Pixel bekannt. Wenn die Fluoreszenz für das Pixel erfaßt wird, ist die Identität des Analytikums bekannt, das an das Pixel gebunden ist.

## Arraylichterfassung

Ein Detektor wird zum Erfassen des Lichts verwendet, das aus der Fluoreszenz in dem Array resultiert. Beispielsweise kann ein optischer Einzelementdetektor, z. B. eine PNT-Photovervielfacherröhre, verwendet werden. Da die Zeit, mit der ein Lichtstrahl auf jedes spezielle Pixel gerichtet wird, bekannt ist, und die Beleuchtung von unterschiedlichen Pixeln zeitweise beabstandet ist, wird die entsprechende, erfaßte Fluoreszenz die Anwesenheit eines fluoreszierenden Materials in dem Pixel anzeigen. Ein alternativer Detektor ist ein Arraydetektor, bei dem mehr als ein Detektorelement verwendet wird, um die Zielchemikalien überabzutasten, was die Unterscheidung gegenüber Ungleichmäßigkeiten ermöglicht. Ein Beispiel eines Arraydetektors ist ein Festkörperhalbleiterbauelement, wie z. B. ein ladungsgekoppeltes Bauelement-Array (CCD-Array; CCD = Charge Coupled Device).

Das Erregungslicht von einer Lichtquelle trifft auf das fluoreszierende Material auf, das an das Analytikum in dem Array gebunden ist, und bewirkt, daß dasselbe Licht als fluoreszierendes Licht emittiert. Lediglich Pixel mit einem fluoreszierenden Material werden Fluoreszenzsignale emittieren. Die erfaßten fluoreszierenden Signale werden mit einer elektronischen Erregung für Lichtquellen identifiziert und vorzugsweise durch eine elektronische Verarbeitungseinheit, wie z. B. einem Mikroprozessor oder einem Computer, verarbeitet.

Wie vorher erwähnt, kann durch Analysieren der Struktur des Fluoreszenzlichts in dem Array die Identität der Analytika in der Probe bestimmt werden. Das Erfassen der Fluoreszenz mit einem geeigneten Detektor wird zu einer Fluoreszenzstruktur führen, in der gewisse Positionen in der Struktur eine Fluoreszenz und gewisse Positionen keine Fluoreszenz zeigen. Die Identität eines Analytikums auf einem speziellen Pixel in dem Array kann durch Erfassen der Position der Fluoreszenz in der Struktur und Verbinden dieser Position mit Daten, die die Identität der chemischen Bindemittelanteile und der Pixelpositionen in dem Array betreffen, bestimmt werden. Es gibt verschiedene Verfahren zum Verbinden derartiger Daten mit dem chemischen Array. Bei-

spielsweise können die Daten physisch auf dem Gehäuse des Arrays codiert oder getrennt in einem Computer gespeichert werden.

Die vorliegende Technik der Bestrahlung und Erfassung weist einen großen Vorteil gegenüber Techniken auf, die eine Neubestrahlung nach dem Lesen jedes Pixels erfordern, oder lediglich Neubestrahen, nachdem das gesamte Array gelesen wurde. Wenn die Neubestrahlung eines Pixels unmittelbar danach durchgeführt wird, nachdem das Pixel bestrahlt wurde, können die Farbstoffmoleküle in dem Pixel möglicherweise nicht genügend Zeit haben, um sich ausreichend von den metastabilen Zuständen zu erholen, und die Fluoreszenz ist aufgrund der Anwesenheit von metastabilen Zuständen, die nicht fluoreszieren, weniger als optimal. Wenn jedoch die Neubestrahlung lediglich dann durchgeführt wird, nachdem das gesamte Array oder ein großer Abschnitt, wie z. B. die Hälfte, des Arrays bestrahlt wurde, müßte sich die Betätigungs- oder Strahllenkungsvorrichtung eine wesentliche Strecke bewegen und eine lange Zeit warten, bevor sich dieselbe zurück zu dem ersten Array bewegt. Dies ist insbesondere bei heutigen, großen Arrays (z. B. denselben, die mehr als eintausend oder sogar Tausende von Pixeln in einer Reihe oder Spalte aufweisen) mit kleinen und unmittelbar benachbarten Pixeldimensionen wahr. Beispielsweise kann die Abmessung eines Pixels quer zu demselben bis zu 3  $\mu\text{m}$  klein sein. Beim Durchlaufen einer wesentlichen Strecke und einem Warten einer langen Zeit können die ursprünglichen Pixelpositionen möglicherweise nicht ohne weiteres neu eingerichtet (d. h. überlagert) werden. Beispielsweise könnte sich die Temperatur geändert haben, wodurch bewirkt wird, daß sich das Array in der Größe ändert. Beispielsweise kann eine thermische Ausdehnung auftreten, wenn das Array unterhalb Raumtemperatur vor dem Lesen bei Raumtemperatur gespeichert wurde. Wie beschrieben wird eine adäquate Zeit für den Farbstoff in einem Pixel vorgesehen, so daß sich derselbe von den metastabilen Zuständen erholt, jedoch nicht so viel Zeit, daß dies wesentlich die Schwierigkeit beim Überlagern des Laserstrahls an den ursprünglichen Positionen erhöht. Das Resultat der Neuabtastungen (d. h. des Neulesens) kann auf der Zeile hinzugefügt oder gemittelt werden, um die Datenmenge zu reduzieren, die gespeichert werden muß.

Wie vorher erwähnt, kann die Steuerung der Betätigungs- oder der Strahllenkungsvorrichtung, z. B. des Scanners zum Bewegen des Laserstrahls, des Betätigungssystems zum Bewegen des Arrays oder des Betäigters, der den Laser bewegt, durch einen Computer durchgeführt werden. Allgemein kann ein Computerprogramm oder eine Software implementiert werden, um eine derartige Steuerung sowie die Erfassung und die Messung der Fluoreszenz zu erreichen. Die Steuerung der Betäigter, Scanner etc. ist in der Technik gut bekannt.

Bei der Analyse der Daten wird die Fluoreszenzintensität jedes Lesens eines Pixels in dem Speicher eines Computers (der ferner ein Mikroprozessor sein kann) gespeichert. Nach jedem Neubestrahen und jeder Neuerfassung wird der Speicher durch Summieren der alten und der neuen Fluoreszenzdaten für jedes Pixel aktualisiert. Bei der Abwesenheit eines Bleichens des Farbstoffs steigen die Signale proportional mit der Anzahl  $n$  der wiederholten Lesevorgänge, und das Signal-zu-Rausch-Verhältnis steigt mit der Quadratwurzel von  $n$ .

Das folgende Beispiel ist für Darstellungszwecke angegeben. Ein Laser von UNIPHASE (San Jose, Kalifornien), Modell 2211-20SLE, der bei einer Ausgangsleistung von 10 mW, einer Wellenlänge von 488 nm und einem Fokusfleck von einer Halbwertsbreite (FWHM) von 3  $\mu\text{m}$  arbeitet, wird verwendet, um ein chemisches Array mit 5.000 Pixeln

in einer Reihe abzutasten. Die Bestrahlungsdauer ist mindestens 5  $\mu$ s für jedes Pixel, beispielsweise 6  $\mu$ s. Ein Fluoreszein, das eine Fluoreszenzlebensdauer in der Größenordnung von Nanosekunden aufweist, ist der Farbstoff für das Kennzeichnen der Analytika. Die Zeit, die zum Erholen von den metastabilen Zuständen des Fluoreszeins erforderlich ist, liegt in der Größenordnung von Millisekunden. Durch Abtasten einer Zeile, d. h. 5.000 Pixeln, vor dem Neubestrahlten ist die Zeilenzeit, d. h. die Zeit, die erforderlich ist, um eine Zeile vor dem Wiederholen abzuschließen, mindestens etwa 30 ms, was reichlich für das Fluoreszein ist, um sich von den metastabilen Zuständen zu erholen.

## Patentansprüche

1. Vorrichtung zum Analysieren von Chemikalien in einem Array (104) mit einer Mehrzahl von Arrayelementen, von denen bei einigen angenommen wird, daß dieselben fluoreszierendes Material enthalten, mit:
  - einer Lichtquelle (102) zum Strahlen eines Lichtstrahls auf die Arrayelemente in einzelnen Pixeln, wobei die Pixel in Zeilen angeordnet sind;
  - einer Einrichtung zum Steuern (108) der relativen Position der Lichtquelle (102) zu dem Array (104), derart, daß die Lichtquelle den Lichtstrahl richtet, um eine erste Anzahl von Pixeln in dem Array (104) sequentiell zu bestrahlen, und zum einmaligen oder mehrmaligen Wiederholen der sequentiellen Bestrahlung vor dem Bestrahlen einer zweiten Anzahl von Pixeln,
  - wobei sich die Pixel der zweiten Anzahl von den Pixeln der ersten Anzahl unterscheiden, wobei die erste Anzahl von Pixeln mehr als ein Pixel und weniger als die Gesamtanzahl der Pixel in dem Array (104) aufweist; und
  - wobei die Einrichtung zum Steuern (108) angeordnet ist, um die erste Anzahl von Pixeln derart auszuwählen, daß vor einem erneuten Bestrahlen eines Pixels eine Zeitdauer verstreicht, die ausreichend ist, daß sich fluoreszierendes Material in dem Pixel von einem metastabilen Zustand erholt;
  - einem Detektor (110) zum Erfassen einer Fluoreszenz, die aus der Bestrahlung resultiert.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, bei dem die Einrichtung zum Steuern (108) derart angepaßt ist, daß eine Zeitdauer verstreicht, die ausreichend ist, daß sich fluoreszierendes Material in dem Pixel von einem erregten Triplett-Zustand erholt, bevor es erneut bestrahlt wird.
3. Vorrichtung gemäß Anspruch 1 oder 2, bei der mindestens ein Abschnitt der Lichtquelle (102) bewegbar ist, und bei der die Einrichtung zum Steuern (108) angepaßt ist, um den mindestens einen Abschnitt der Lichtquelle (102) zu bewegen, um den Lichtstrahl von Pixel zu Pixel zu richten, um die Pixel zu bestrahlen.
4. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, bei der die Einrichtung zum Steuern (108) angepaßt ist, um die Lichtquelle (102) zu steuern, um die Pixel in einer Zeile sequentiell zu bestrahlen, und um eine Zeile nach der anderen von einer benachbarten Zeile zur nächsten benachbarten Zeile zu bestrahlen, ohne eine Zeile neu zu bestrahlen, nachdem eine andere Zeile danach bestrahlt wurde.
5. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, die ferner eine Einrichtung zum Summieren der Fluoreszenzsignale aufweist, die von einem Pixel durch den Detektor während der wiederholten Bestrahlung des Pixels erfaßt werden.

6. Vorrichtung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, bei der die Lichtquelle (102) angepaßt ist, um ein Licht zu emittieren, das zum Bewirken einer Fluoreszenz in einem fluoreszierenden Material geeignet ist, das aus den Gruppen ausgewählt ist, die aus Fluoreszeinen, TEXAS RED, Ethidiumbromid, chelatierten Lanthanoiden, Rhodamine, Indocyanine, Carbocyanine, Oxaazine, Organometallen und Metallatomclusterverbindungen bestehen.

7. Verfahren zum Analysieren eines chemischen Arrays (104) mit einer Mehrzahl von Arrayelementen, von denen bei einigen angenommen wird, daß dieselben fluoreszierendes Material enthalten, mit folgenden Schritten:

- sequentielles Bestrahlen einer ersten Anzahl von Pixeln in den Arrayelementen und Erfassen der Fluoreszenz, die aus der Bestrahlung in den Pixeln resultiert, wobei die erste Anzahl der Pixel mehr als ein Pixel und weniger als die Gesamtzahl der Pixel in dem Array ist; und
- Wiederholen der Bestrahlung und des Erfassens der Fluoreszenz der ersten Anzahl von Pixeln ein oder mehrere Male vor dem Bestrahlen der Pixel einer zweiten Anzahl von Pixeln, die sich von den Pixeln der ersten Anzahl von Pixeln in dem Array unterscheiden,

wobei die erste Anzahl von Pixeln derart ausgewählt ist, daß vor einem erneuten Bestrahlen eines Pixels eine Zeitdauer verstreicht, die ausreichend ist, daß sich fluoreszierendes Material in dem Pixel von einem metastabilen Zustand erholt.

8. Verfahren gemäß Anspruch 7, das ferner den Schritt des Bestimmens der Zeitdauer aufweist, die für das fluoreszierende Material erforderlich ist, um sich von dem metastabilen Zustand zu erholen.

9. Verfahren gemäß Anspruch 7 oder 8, bei dem der metastabile Zustand ein erregter Triplett-Zustand ist.

10. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 7 bis 9, das ferner den Schritt des Bewegens eines bestrahrenden Lichtstrahls von Pixel zu Pixel in einer Zeile von Pixeln und des Wiederholens des Bestrahls der gleichen Zeile mindestens einmal vor dem Weiterbewegen zu einer anderen Zeile von Pixeln aufweist.

11. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 7 bis 10, bei dem die erste Anzahl von Pixeln die Anzahl von Pixeln in einer ersten Zeile und die zweite Anzahl von Pixeln die Anzahl von Pixeln in einer Zeile benachbart zu der ersten Zeile ist, wobei jede Zeile mehr als hundert Pixel aufweist.

12. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 7 bis 11, das ferner den Schritt des sequentiellen Bestrahls von Pixeln in einer Zeile und des Wiederholens vor dem Bestrahlen einer weiteren Zeile aufweist, wobei für alle Zeilen von Pixeln die Zeilen, eine Zeile nach der anderen, von einer benachbarten Zeile zu der nächsten Zeile bestrahlt werden, ohne eine Zeile neu zu bestrahlen, sobald eine andere Zeile danach bestrahlt wurde.

13. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 7 bis 12, das ferner den Schritt des Bestrahls einer adäquaten Anzahl von Pixeln in einer Zeile aufweist, derart, daß  $10^{-5}$  s bis  $10^{-1}$  s verstrichen sind, bevor ein Pixel neu bestrahlt wird.

14. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 7 bis 13, bei dem die Elemente in Zeilen von Pixeln mittels eines

11  
Laserstrahls abgetastet w.

12

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

5

10

15

20

25

30

35

40

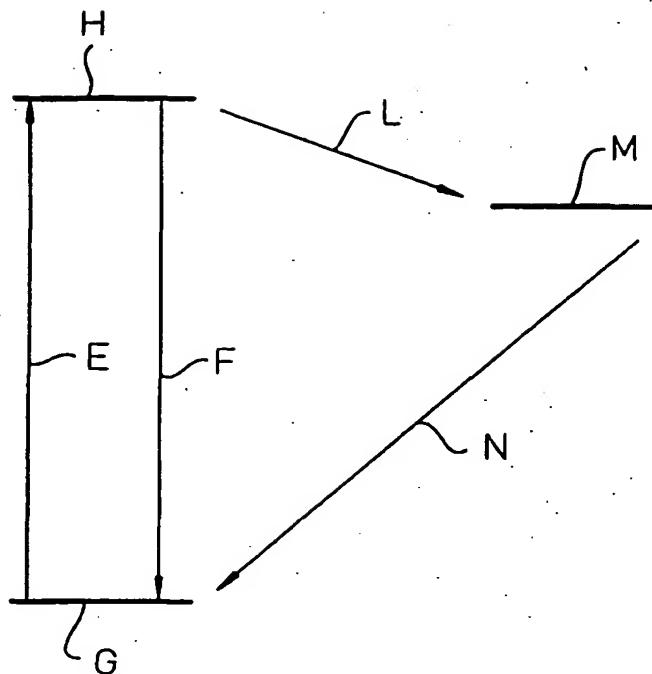
45

50

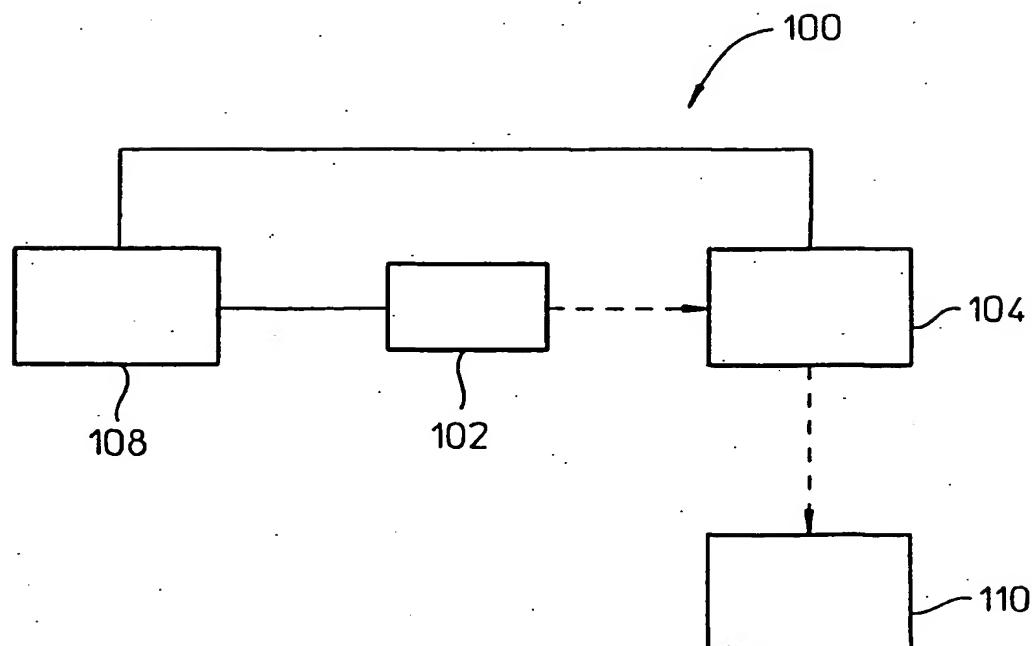
55

60

65



*Fig. 4*



*Fig. 1*

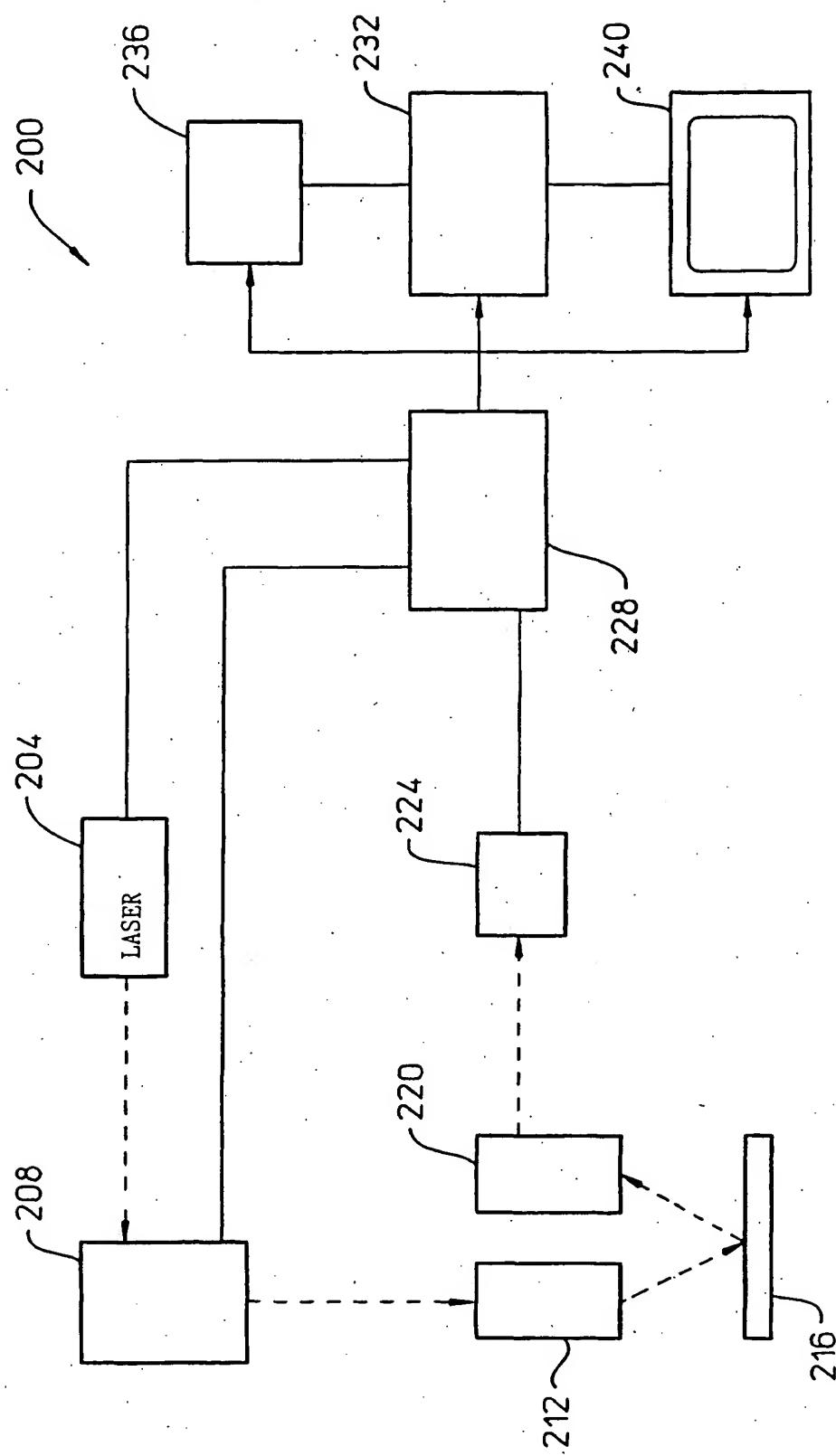


Fig. 2

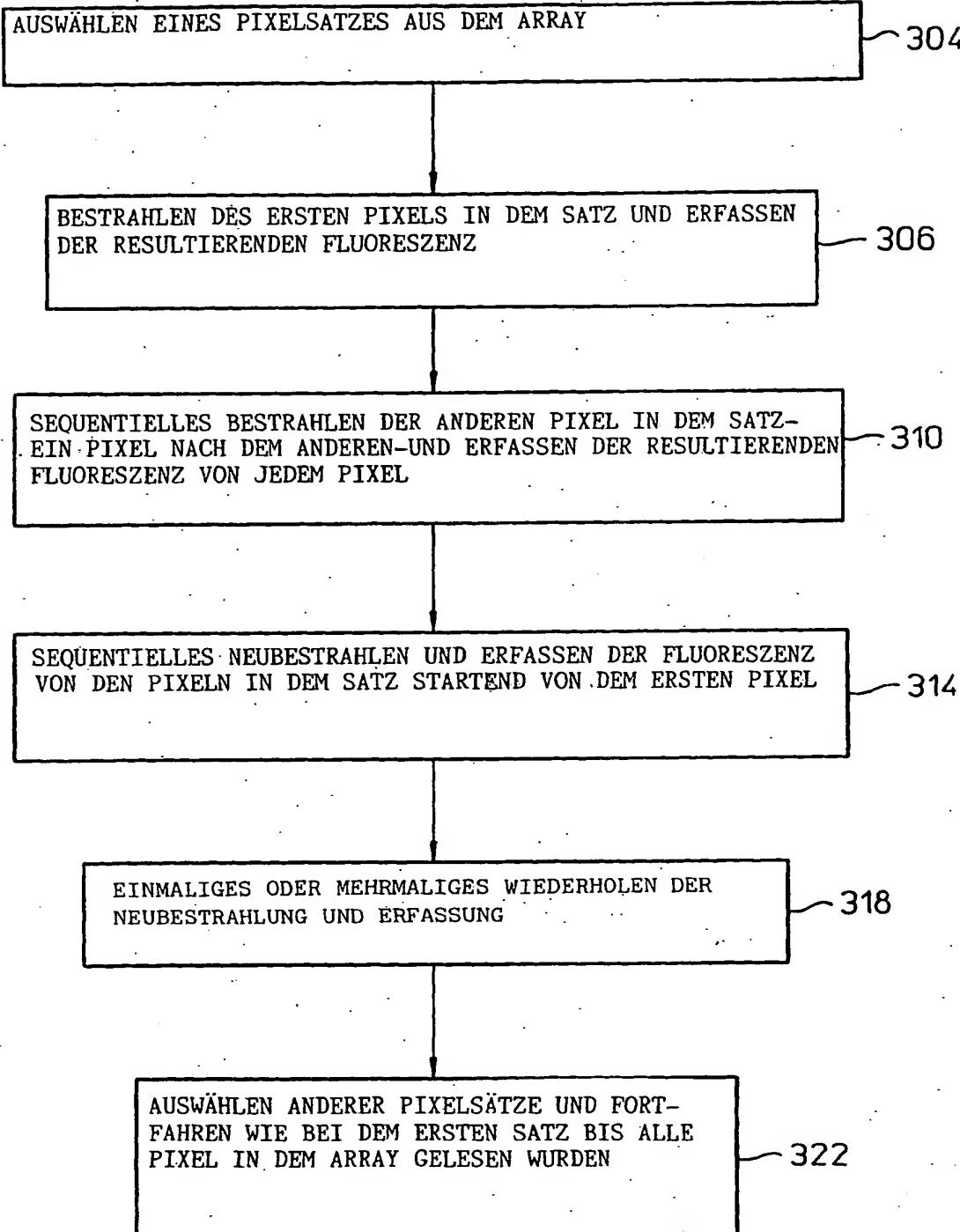


Fig. 3